PROPIONIBACTERIUM ACNES: INDICADOR MICROBIOLÓGICO DE APROXIMACION CRIMINALISTICA A LA DATA DE MUERTE.

FERNANDEZ CORCOBADO I.C.[1]

RESUMEN.
En esta investigación, se desglosaron los fenómenos de descomposición y putrefacción cadavéricos, asociándolos a la evolución post-mortem de la microflora humana y a la temperatura corporal de los restos. Se trata de aportar nuevas herramientas de trabajo, a través de indicadores microbiológicos, que puedan ser de utilidad a los equipos de investigación médico-forense, policial y judicial, para facilitar el cronotanatodiagnóstico. Sobre una muestra total de 592 rastros microbiológicos de *Propionibacterium acnes*, procedentes de 40 sujetos vivos y 29 cadáveres, se aplicaron análisis estadísticos mediante Regresión Lineal. Los resultados indicaron que para los cadáveres - con data de muerte certificada e indubitada - el 97% de la varianza de la variable 'horas transcurridas desde el hallazgo del cadáver' se puede predecir con los parámetros de crecimiento de *P. acnes*. Sobre el origen criminológico de la causa de muerte, se concluyó que la relación entre horas transcurridas/parámetros de crecimiento de *P. acnes*, presenta valores menores en caso de muerte accidental y mayores en la natural.

PALABRAS CLAVE. Cronotanatodiagnóstico, Descomposición cadavérica, Antropología forense, Criminalística, Microbiología, Termografía infrarroja.

INTRODUCCIÓN

La finalidad de esta investigación ha consistido en introducir nuevas y simples herramientas, para la materialización de la prueba a efectos judiciales.n Del mismo modo, se pretende mantener dispoible la información resultante de los análisis, para que los equipos de investigación forense, judicial y policial dispongan de complementarios y rápidos elementos de contraste, durante la investigación Criminalística.

En este proyecto se ha ensayado un método alternativo de aproximación al cálculo de la data de muerte, para verificar si es posible reducir el margen de error que actualmente se produce, en la aplicación de otros diferentes métodos y acotar al máximo posible el momento en que ésta se produjo. Se han establecido unas bases metodológicas iniciales, sobre las que crear un protocolo de aplicación general, en el campo de la Termografía y la Microbiología Forenses. Se han aplicado tradicionales métodos microbiológicos, ya empleados sobre muestras de todo tipo, con un nuevo enfoque criminalístico. Con el fín de delimitar al máximo posible los factores de influencia ambiental y simplificar el análisis del efecto de los mismos, se ha añadido el apoyo de instrumentos termográficos (cortesía de Alava Ingenieros, S.A – Flir Systems) y de medición meteorológica (Krestel 4000 – Nielsen Kellerman / Ultroptic, S.A) de sencillo manejo, no empleados antes a estos efectos.

Cámara termográfica ThermaCAM S60 de FLIR Systems (Álava Ingenieros, S.A) y Estación meteorológica portátil Krestel 4000 (Ultroptic S.A).

1 Doctor por la Universidad de Granada, Experto Detective, especialista en Técnicas Criminalísticas. e-mail: iso777@telefonica.net

Este protocolo sería aplicable a restos cadavéricos, cuyo óbito no se haya producido bajo causas naturales controladas, o que tengan incluso un origen criminológico.

Primeramente, el objetivo pretende facilitar el análisis de las etapas de descomposición y putrefacción cadavéricas, relacionándolas con el patrón de crecimiento/muerte de los microorganismos, responsables de las alteraciones post-mortem. Se trata de establecer un indicador microbiológico que determine Data de Muerte.

Para ello nos basamos en el acotamiento y definición de las fases y fenómenos de descomposición y putrefacción cadavéricas, aunando los criterios forenses empleados hasta ahora en diversos campos, tales como el de la Medicina, la Entomologia y los términos científico-policiales.

La hipótesis de partida y que se trató de verificar en este trabajo se formuló cuestionando si existen sendas correspondencias, entre los parámetros de crecimiento microorgánico sobre restos cadávericos y la temperatura de éstos, respecto al tiempo transcurrido desde la muerte, que permitan conseguir una mayor aproximación en el cálculo de la data de muerte, con fines criminalísticos.

METODOS

En consecuencia, el planteamiento del trabajo se agrupó bajo dos aspectos:

- El análisis microbiológico de los componentes bacterianos, de la flora microbiana natural de la piel humana y su comparación entre individuos vivos y cadáveres, en diferentes estados de descomposición.
- El análisis termográfico de la energía desprendida en forma de radiación infrarroja, tanto en los sujetos vivos como en los cadáveres.

Complementariamente, se realizó una exploración de las variables ambientales, que pudieran resultar más influyentes sobre la dinámica de ambos y para las que se trató de verificar su influencia sobre el proceso de descomposición de cadáveres. Las variables que se consideraron fueron la temperatura, la humedad relativa del aire y la velocidad del viento.

Se optó por emplear *Propionibacterium acnes, procariota anaerobio aerotolerante, Gram positivo, lipófilo y mesófilo*, de acuerdo a las siguientes consideraciones: Presenta inocuidad para el hombre, aunque es responsable en su forma más proliferativa del acné común y sólo en circunstancias muy específicas y restringidas a ciertas patologías puede causar algún tipo de infección. Forma parte de la microflora habitual de la piel, sobre todo en frente, cara, espalda, hombros y axilas, donde abundan más las glándulas sebáceas en las que predominan. Ofrece, por tanto, la posibilidad de realizar estudios comparativos entre las muestras tomadas de cuerpos humanos vivos y aquellas procedentes de restos cadavéricos y no requiere de medidas de seguridad ni de cultivo complicadas.

Se procedió a seleccionar las zonas del cuerpo humano, con interés para el objetivo, sobre las que recoger las muestras a analizar. Estas zonas fueron determinadas bajo los siguientes criterios: Ser aquellas en las que la presencia de microflora y, especialmente, de P.acnes, se detecta de manera habitual en el humano vivo; ser de facil acceso para la toma de muestras, incluso para personal no entrenado; estar suficientemente protegidas de contaminaciones externas por su situación en el cuerpo -menos expuestas a la intemperie

y roces casuales- y que no requirieran de complicados dispositivos para la recogida y transporte de las muestras.

Como resultado de esta selección, las zonas elegidas para el estudio fueron la superficie epidérmica de la axila y la superficie epidérmica craneal del pabellón auricular, sobre la eminencia de la concha, en dirección al lóbulo.

Una vez seleccionado *P. acnes* como indicador experimental para este fín, se procedió a su cultivo en condiciones de laboratorio. Los resultados se emplearon para cuantificar microbiológicamente su crecimiento y compararlo con los de muestras tomadas de la piel de sujetos vivos y cadáveres.

Para intentar reproducir la toma de muestras y simplificar el método en caso de ser utilizado en investigaciones, bien por parte del personal de los cuerpos policiales, bien por el personal médico-forense, se decidió tomar las muestras sobre la piel de los sujetos mediante hisopo de algodón en seco y se descartó la idea de conservar directamente la muestra en cualquier medio de mantenimiento.

Para el traslado de las muestras a laboratorio, se preservó cada hisopo en su propio eppendorf –contenedor primario- y éstos se introdujeron en un contenedor secundario al efecto, depositado en nevera portátil refrigerada a unos 4ºC.

A lo largo del estudio, se tomaron muestras microbiológicas de la superficie de la piel de individuos vivos, procedentes de 40 donantes voluntarios agrupados al azar, de los que se obtuvieron un total de 352 rastros biológicos cultivables. De igual manera, se tomaron muestras de los microorganismos residentes en la superficie de la piel de cadáveres seleccionados al azar, de una población original de 29 individuos, cuya autopsia se realizó en el Servicio de Patología Forense del Instituto de Medicina Legal de Granada y de los que se recopilaron un total de 240 microrrastros.

Las muestras se cultivaron siguiendo métodos tradicionales microbiológicos, en cuanto a su inoculación, cultivo e incubación –Método de Diluciones Seriadas al Décimo, Siembra por Extensión en Placa y uso de Jarra de Anaerobios-, así como técnicas de cuantificación del crecimiento –Recuento en Placa de UFC/ml y Cálculo de Parámetros de Crecimiento- habitualmente empleadas en microbiología predictíva. Los resultados de los cultivos se consiguieron en 48 horas.

Placa de cultivo microbiológico, procedente de muestras recogidas sobre piel de sujetos sometidos a autopsia. Autor: Isabel C. Fdez Corcobado, Dpto. Microbiología del Suelo y Sistemas Simbiontes, Estación Experimental Zaidín – CSIC – Granada, 2006.

El análisis de los datos registrados a lo largo de todo el trabajo y agrupados en las diferentes variables definidas, se efectuó mediante paquete estadístico SPSS 11.5,

empleando técnicas de análisis tales como el cálculo de Descriptivos, Tablas de Contingencia, contrastes ANOVA, Correlaciones Bivariadas de Pearson y Coeficientes de Regresión Lineal.

En el caso de las muestras de P.acnes procedentes de individuos vivos, estos análisis se aplicaron para el total de los sujetos muestreados; en diferentes zonas corporales: axila y pabellón auricular, para zonas simétricas del cuerpo: axila izquierda –axila derecha, pabellón auricular izquierdo– pabellón auricular derecho; efectuando frotis sucesivos en la misma zona; diferenciando entre muestras tomadas y procesadas de inmediato o muestras tomadas y conservadas en refrigerador; para muestras tomadas a intervalos de tiempo en el mismo individuo y diferenciando entre sexos; para otras zonas y para tejidos en contacto con la piel.

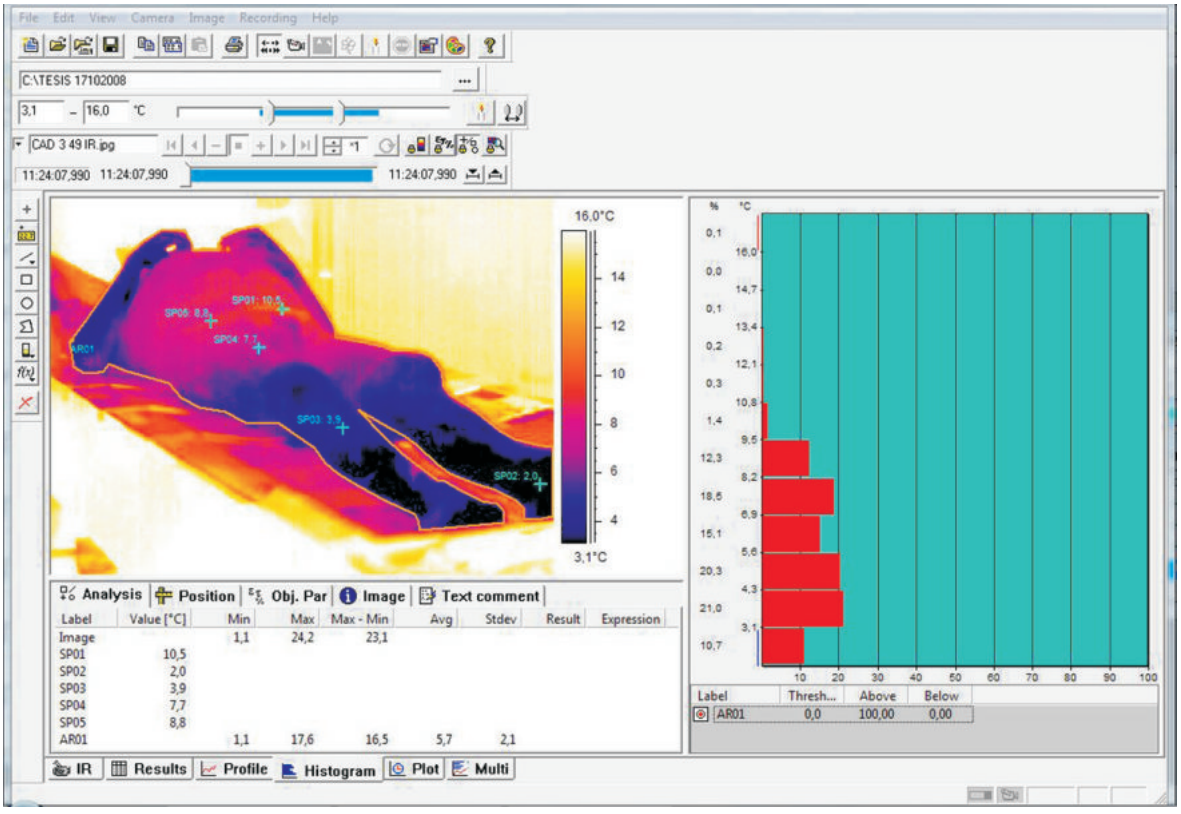
En el caso de las muestras procedentes de cadáveres, se realizaron los mismos cálculos, para el total de la muestra, sobre las zonas determinadas y posteriormente sólo para cadáveres con certificado médico de defunción, teniendo además presente la estimación sobre la data de muerte, facilitada por la colaboración del personal médico forense. Los métodos referidos por el equipo forense, empleados para calcular la data de muerte, fueron los nomogramas de Henssge y el método Al-Alousi & Andersen[2].

Por otro lado, se realizó un estudio termográfico a fín de lograr una mayor exactitud en la medida de la temperatura corporal, que tradicionalmente se viene realizando con los termómetros de mercurio y las sondas de penetración. La precisión de estos instrumentos es de + 0,1º, con un rango de medida entre 35,5º a 42,0ºC -en el caso del termómetro de mercurio - y de + 2ºC, con rango entre 0º a 150º C - en el de las sondas-. En esta investigación, se sustituyeron éstos por novedosos aparatos de termografía infrarroja, pertenecientes a la gama S65 de Flir Systems, cuyos dispositivos cuentan con una sensibilidad térmica de 0,08ºC y alcanzan un rango de temperaturas entre -40ºC a +1500ºC (opcional hasta +2000ºC), con una precisión de + 2ºC (+ 2%).

Se identificaron los principales puntos de medición de temperatura con relevancia forense -rectal y hepática- y se procedió a comparar los registros de temperatura del cuerpo humano vivo con los adquiridos post-mortem -dado que por su característica homeoterma, el hombre presenta durante su ciclo de vida una temperatura corporal constante, de unos 36,7 + 0,2º C-[3]. En los individuos vivos se utilizaron para testar diferencias de precisión entre los termómetros tradicionales y la medición por cámara infrarroja. También se empleó para verificar que la temperatura, de las zonas objeto de muestreo microbiológico mencionadas -axila y pabellón auricular- se mantiene constante. En cadáveres, además, la temperatura sirvió para verificar si existe correlación, entre los registros de temperatura y el tiempo transcurrido desde la muerte, y/o las fases de descomposición.

Las imágenes termográficas obtenidas se procesaron con el software ThermaCAM Researcher Professional y para la elaboración de informes automáticos, se empleó el software ThermaCAM Reporter, facilitados con el equipo, que ofrecen la posibilidad de completar los análisis estadísticos a posteriori, una vez elaborados los informes y dado el carácter de interactividad de las imágenes que captura.

2 Microwave thermography in forensic medicine Al-Alousi, L.M., Anderson, R.A.. Police Surg., Glasgow, v.30, p.30-42, 1986.
3 Medicina legal y toxicología. 20. Data de la muerte y otros problemas tanatológicos médico-legales. E. Villanueva Cañadas. Gisbert Calabuig, , 6ª Edición, Masson, 2004, pág. 244.



Resultados de termografía infrarroja sobre cadáver. Autora: Isabel C. Fernández Corcobado –Tesis doctoral-. Instituto de Medicina Legal de Granada, 2006. Software cortesía de Alava Ingenieros, S.A.

Con el mismo instrumento se grabaron instantáneas fotográficas y videográficas -tanto reales como termográficas ambas- de los cadáveres objeto de muestreo, en la sala de autopsias del Servicio de Patología Forense del IML, recogiendo la totalidad del proceso de la autopsia. En el mismo acto, se realizaron las

Fotogramas videográfico y termografíco tomados sobre cadáver durante el proceso de autopsia. Autor: Isabel C. Fdez Corcobado, Instituto de Medicina Legal de Granada, 2007.

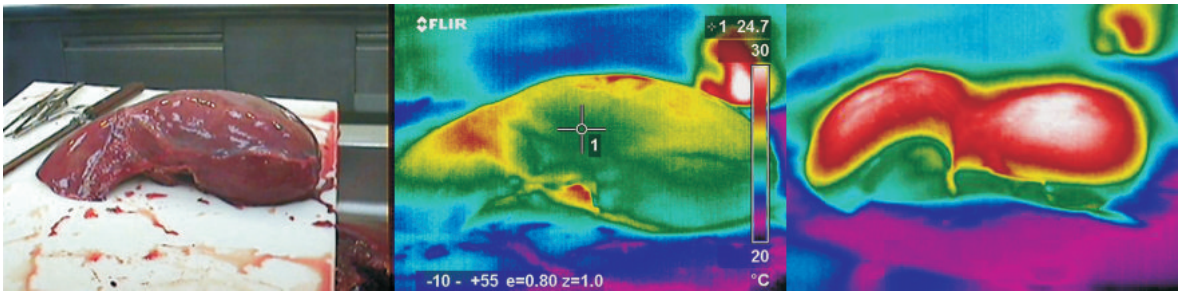
mediciones de temperatura, conjuntamente con la recogida de las muestras microbiológicas, para su análisis.

La cámara portátil se montó sobre un trípode fijo, enfocando la totalidad del cuerpo, colocado por el equipo forense sobre la mesa de autopsias. Las características de la cámara permiten detectar y grabar los registros de temperatura de cada uno de los pixels que forman la imagen[4], en la forma elegida. En este caso, se eligió la opción de grabar una imagen termográfica en ángulo picado, respecto a la mesa de autopsias, de cada uno de los cadáveres yacentes en decúbito supino, cada 10 segundos y durante el tiempo completo de duración del proceso de autopsia. Adicionalmente se realizaron tomas por separado de cada uno de los puntos de interés forense, antes mencionados –hígado y genitales-, así como de la axila y el pabellón auricular.

El análisis termográfico sirvió para identificar zonas corporales con contraste de temperaturas, determinar máximas y mínimas, temperatura media global y por zonas, hora de captación de la imagen y tiempo transcurrido entre el inicio de la primera imagen tomada en el transcurso de la autopsia, hasta el fín de la misma.

En total y sujetos a la disponibilidad del material cedido, se efectuaron termografías de 5 sujetos vivos y sanos, seleccionados al azar y en el caso de cadáveres, se termografiaron un total de 14 individuos.

Para esbozar un análisis adicional, sobre los escenarios en las que se sitúa el hallazgo de un cadáver, se realizó una recopilación de registros referentes a algunas de las variables ambientales más importantes, antes citadas. Por las características de aproximación del estudio, no se accedió directamente a los lugares del hallazgo y los datos correspondientes a éstas variables se captaron en la misma sala donde se desarrollaron las autopsias, para aplicar después su interpretación de forma orientatíva. Paralelamente al registro local de las variables ambientales, se solicitó a la Agencia Estatal de Meteorología (AEMET) el suministro de los datos correspondientes a las mismas variables, registrados diariamente , en el área metropolitana de Granada, para los meses de Abril, Mayo, Junio, Julio, Agosto y Septiembre de 2007, periodo durante el que se tomaron las muestras microbiológicas y termográficas, a los sujetos vivos y los cadáveres. Estas variables fueron registradas con la estación de medición meteorológica portátil Krestel 4000, durante todo el tiempo transcurrido para la realización de las autopsias.



Fotografía y termografías tomadas sobre hígado de cadáver, antes y después de su disección. Autor: Isabel C. Fdez Corcobado, Instituto de Medicina Legal de Granada, 2007.

4 ThermaCAM™ Researcher - User's manual - Professional Edition. Flir Systems. Version 2.8 Publ. No. 1 558 071 Rev. a52 – English (EN) – June 7, 2004, pag. 16.

RESULTADOS Y DISCUSION

Entre los principales resultados obtenidos, dado el objeto de la investigación, cabe citar los siguientes:

En el 80% de muestras procedentes de sujetos vivos, el recuento en placa de *P. acnes* es macroscópicamente nulo. El dato estadístico determinado por el contraste ANOVA, con p = 0,070 (p>0,05) confirmó que no existen diferencias en los recuentos, en cuanto a las zonas del cuerpo muestreadas.

Del mismo modo, para individuos vivos, se obtuvo que no existen diferencias en los recuentos en cuanto a zonas axilares simétricas del cuerpo, muestreadas (p = 0,528); que no existen diferencias en los recuentos en cuanto al número de frotis realizados para la toma de muestras (p = 1,000); no existen diferencias en los recuentos en cuanto a si la muestra ha sido conservada o procesada de inmediato (p = 0,063) y que no existen diferencias en los recuentos en cuanto al tiempo de conservación de las muestras (p = 0,231).

En cuanto a muestras tomadas a intervalos de tiempo en el mismo individuo y diferenciando entre sexos, los resultados del recuento y de la determinación de los parámetros de crecimiento microbiológico de *P. acnes* (nº de generaciones, velocidad de crecimiento y tiempo de generación) no difieren entre las horas registradas, para el conjunto de muestras de varón y mujer analizadas. En la población general, la hora en que se toma la muestra en sujetos vivos no influye ni el recuento de *P. acnes*, ni en sus parámetros de crecimiento. Aún así, debería repetirse la prueba aumentando el tamaño de la muestra, para confirmar este resultado. Anecdóticamente se muestreó el antebrazo de sujetos vivos, dando como resultado presencia negativa de *P acnes*. Este resultado no es concluyente debido al insuficiente número de muestras tomadas.

Por otro lado, se procedió al análisis de tejidos, para comprobar si se detecta presencia de P.acnes en ropas usadas. Esta circunstancia podría ser útil, dado que indicaría transferencia de residuos biológicos. En el caso de este estudio, el resultado del cultivo fue negativo, pero tampoco es concluyente dado también el insuficiente número de muestras tomadas. En el supuesto de transferencia positiva, podría plantearse el estudio de la presencia microbiológica, en general de cualquier microorganismo, en las ropas de cadáveres, que igualmente pudieran enfocarse hacia el estudio de la data de muerte. Es incluso de interés tener en cuenta que, en la actualidad, existen técnicas de identificación de cepas microbiológicas, que pudieran resultar de utilidad en la investigación forense. Éstas podrían encaminarse a discernir el origen de los microorganismos hallados, por posible contaminación de un indivíduo a otro, que pudieran aportar información de interés para el esclarecimiento de sucesos de origen criminológico.

En el mismo sentido, podrían añadirse estudios sobre la presencia y origen microbiológico en objetos relacionados con estos sucesos. Actualmente se da la posibilidad de detectar la presencia de microorganismos en materiales tan inertes como los minerales, mediante termografía infrarroja[5] y existen estudios referentes a la carga microbiológica en armas blancas o papel moneda[6]. De cualquier modo, los muestreos realizados en individuos vivos fueron orientativos y sería conveniente repetir los análisis ampliando el tamaño de la muestra, para confirmar estos resultados.

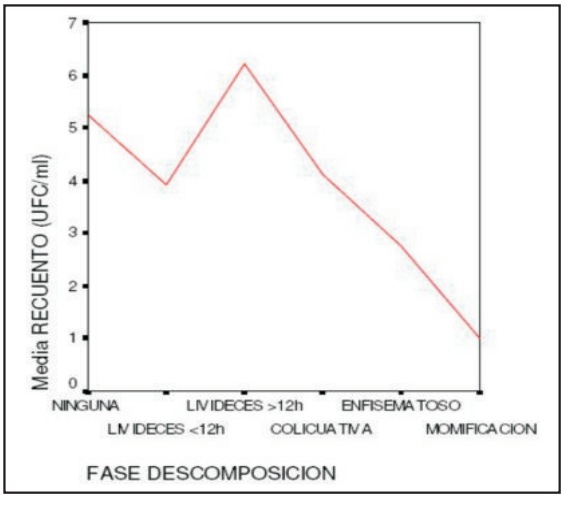
En el caso de los muestreos realizados sobre cadáveres, los resultados para el total de la

5 Lisa West, Face Lift at St.Peters Cathedral, Infrared Training Center, Volume 1, Issue 3, page 3, April 2000.

6 Microscopía de microorganismos presentes en el filo de un cuchillo. Microbiología Alimentaria. Laboratorio Virtual .WebCD. Vol.1. Los microorganismos en la naturaleza. Andrés Chordi Corbo, Teresa Rivas Palá, Carmen Tejedor Gil. Fundación General Universidad Salamanca. Dpto de Microbiología y Genética. Universidad de Salamanca.

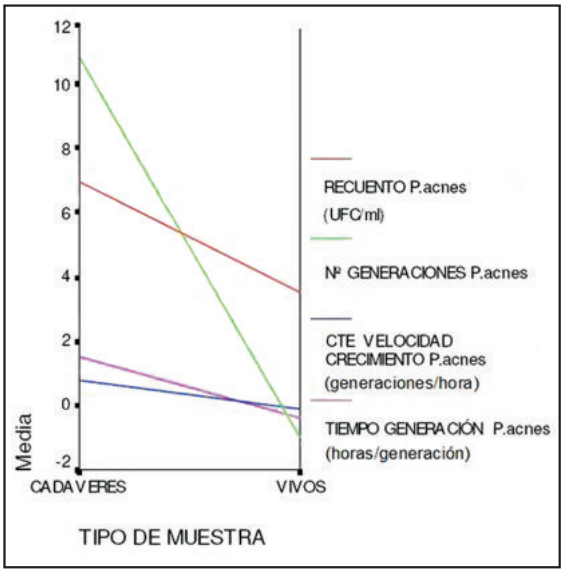
muestra indicaron que, la media para el recuento de Propionibacterium acnes, (intervalo codificación = 4,72 ~ 5 = “x 10 UFC/ml”), difiere de la media hallada para el total de indivíduos vivos analizados (intervalo codificación = 2,92 ~ 3 = “<1 x 10 3 UFC/ml”). Por lo general, se puede decir que en la transición del estado ‘vivo’ al estado ‘cadáver’, se produce un aumento en la población de P.acnes sobre la piel.

En cuanto a la distinción según el avance de la descomposición en los cuerpos, el recuento de P. acnes fue mayor en aquellos cadáveres que aún no presentaban inicio de descomposición y menor en los que ya mostraban signos. Según la fase en que ya se encontraban estos últimos, el recuento disminuye desde que se inicia la primera fase de la descomposición, en la que aún no hay signos macroscópicos de la misma (fase de descomposición “ninguna”). La disminución prosigue dentro de las primeras 12 horas tras la muerte, mientras se muestran signos de livideces de menos de 12 horas. A partir de entonces aumenta el recuento, a medida que las livideces se corresponden con periodos de más de 12 h. Posteriormente se registra una caída progresiva del recuento, que abarca las fases colicuativa, enfisematosa y momificación. En ésta última fase es en la que se producen los mínimos valores.



Variación del recuento de P.acnes, según tipo de fase de descomposición. Total de muestras de cadáveres.

Concretando los análisis para muestras con data de muerte indubitada, procedentes de cadáveres con certificado médico de defunción, se obtuvo que la media para el recuento (intervalo codificación = 4,56 ~ 5 = “x 10 UFC/ml”), también difiere de la medida hallada para el total de indivíduos vivos analizados.



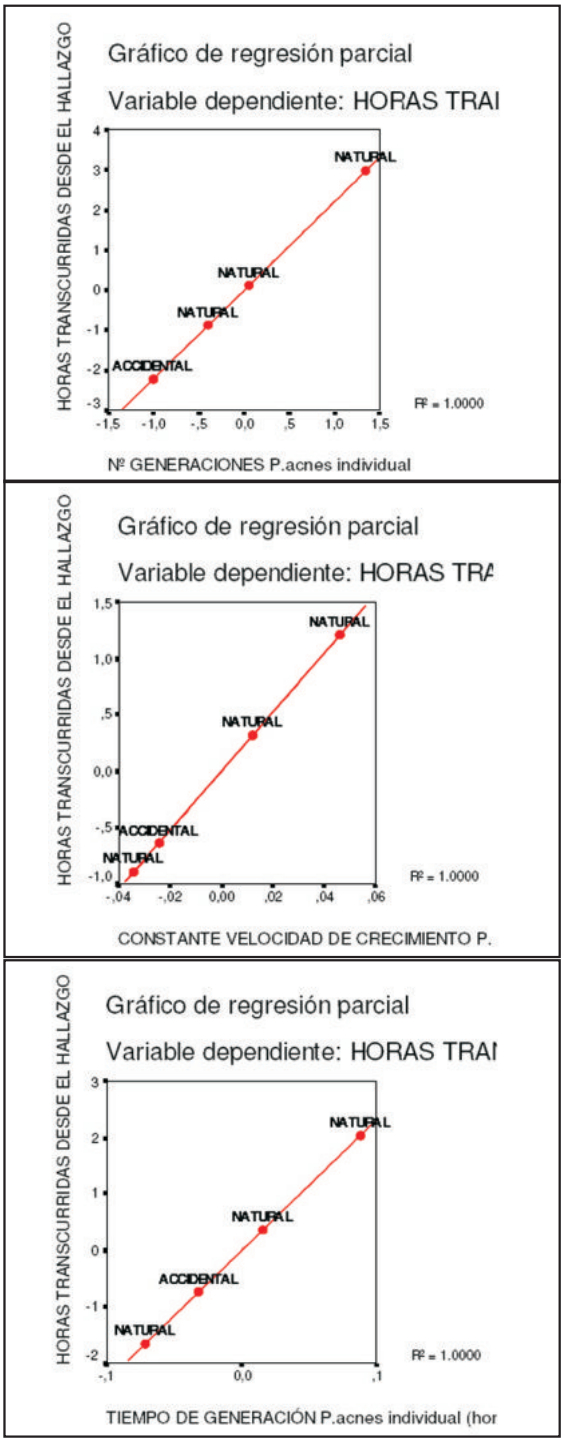
Variación del recuento y los parámetros de crecimiento de Propionibacterium acnes, calculados en el individuo. Comparación entre vivos y cadáveres con certificado defunción.

A diferencia de los vivos, un 44,4% del total de los cadáveres con certificado, presenta recuentos de UFC/ml de *P. acnes* nulos y el 55,6% restante presenta recuentos de entre 102 y 104 UFC/ml. Para estos casos indubitados, el contraste ANOVA del recuento en función de la existencia o no de descomposición, mostró una significación de p = 0,194 (>0,05), que infiere que no existen diferencias para el recuento de *Propionibacterium* acnes, según la existencia o no de descomposición. Sin embargo, para los parámetros de crecimiento del microorganismo, se obtuvieron significaciones de p = 0,002, p = 0,019 y p = 0,014, respectívamente para el nº de generaciones, la velocidad de crecimiento y el tiempo de generación de *P. acnes*, que indican que existen diferencias para cada uno de ellos, según la presencia o no de descomposición en los restos.

Ahondando aún más en la presencia de descomposición, se repitieron los análisis para la cuantificación del recuento y de los parámetros de crecimiento del microorganismo, según el tipo de fase de descomposición presente en el cadáver. Los resultados obtenidos para la significación fueron: p = 0,000 para el recuento, p = 0,010 para el nº de generaciones (n) , p = 0,067 para la velocidad de crecimiento (k) y p = 0,051 para el tiempo de generación (g). Se mostró, en este caso, que existen diferencias entre las sucesivas etapas de descomposición, en el caso del recuento y el nº de generaciones de P.acnes y que estas diferencias no se producen en el caso de los parámetros velocidad de crecimiento y tiempo de generación, aunque es posible que pueda deberse a las características de las muestras, en cuanto a que la representación de cadáveres en avanzados estados de descomposición era menor, que los que se encontraban aún en las primeras fases.

Por otro lado, estas diferencias fueron significativas cuando se realizó la distinción entre cadáveres con fases de descomposición menores o mayores de 12 horas, con resultado para las significaciones de: p = 0,002, para el recuento y 'n' y de p = 0,019 y p = 0,014 para 'k' y 'g'.

En definitiva, para los cadáveres con certificado de defunción, se infirió que en el indivíduo, el 97% de la varianza de la variable 'horas transcurridas desde el hallazgo' se puede predecir con los parámetros de crecimiento de Propionibacterium acnes, 'nº de generaciones' y 'velocidad de crecimiento de P.acnes'. En todos ellos las causas de muerte 'accidental', dentro de la que se incluyen las 'causas de muerte criminológica', presentan los valores más bajos, tanto para el nº de generaciones, velocidad de crecimiento, como tiempo de generación de P.acnes.



Representación del coeficiente de regresión parcial, entre los parámetros de crecimiento de P.acnes y las horas transcurridas desde el hallazgo del cadáver. Para el total de cadáveres con certificado de defunción.

Los resultados de los análisis termográficos en cadáveres de muerte indubitada indicaron que existen relaciones muy buenas-excelentes, entre las temperaturas rectales registradas mediante los métodos tradicionales y las tomadas en axila, oreja y genitales, a través de termografía infrarroja y una relación excelente entre la temperatura hepática tradicional con la genital infrarroja, lo que sugiere que el uso de esta termografía podría emplearse para sustituir a los primeros y obtener mayor precisión. Aportaría una solución a casos en los que no es posible tomar la temperatura del hígado por los métodos habituales, e incluso pueden realizarse estas medidas en el mismo lugar del levantamiento del cadáver, lo cual aportaría una información añadida, al poder compararse la temperatura del cadáver con la del entorno en que se halla. Adicionalmente, se podrían utilizar como criterio de discriminación para las causas de muerte – clasificadas en el estudio como 'inespecíficas' - y la fase de descomposición, ya que se observa que los valores más bajos en la representación de las relaciones, se dan respectívamente en las muertes accidentales y sin fase de descomposición.

Por último, del análisis de la influencia de las variables ambientales, se infirió que ninguna de las relaciones obtenidas indican que exista influencia de interés, de las variables ambientales de la sala de autopsia, sobre los parámetros de crecimiento de P.acnes y que tampoco las variables ambientales del entorno donde se hallan los cuerpos, presentan relación con el tiempo transcurrido desde el hallazgo de los restos.

CONCLUSIONES

Las principales conclusiones inferidas a través de esta investigación, fueron Se puede diferenciar entre el estado "vivo" y el estado "cadáver", en función del recuento de Propionibacterium acnes sobre la piel humana. Se puede distinguir la causa de muerte criminológica –accidental o provocada-, en base a los parámetros de crecimiento de *P. acnes*: 'nº de generaciones, velocidad de crecimiento y tiempo de generación'. Es posible diferenciar entre existencia y fases de descomposición, menores o mayores de 12 horas, en función de los parámetros de crecimiento de *P .acnes*.

Tal como se ha indicado, para la muestra de cadáveres con certificado de defunción, el 97% de la varianza de la variable 'horas transcurridas desde el hallazgo' se puede predecir con los parámetros de crecimiento de *Propionibacterium* acnes, 'nº de generaciones de *P. acnes*' y 'velocidad de crecimiento' de *P. acnes*.

Se proponen, por tanto, estudios similares sustituyendo P.acnes por cualquier otro microorganismo, con posible interés criminalístico –de aplicación a casos de cadáveres carbonizados, sumergidos, muerte súbita, etc-, así como estudios similares, especializando las técnicas de recogida e identificación de microorganismos, de posible interés criminalístico. Sería interesante la creación de bases de datos termográficas y microbiológicas, mantenidas y ampliadas estadísticamente, en colaboración nacional e internacional.

Pueden sustituirse los instrumentos de medida de temperatura tradicionales: termómetro de mercurio y sonda de penetración, por nuevas cámaras de termografía infrarroja. Ni la temperatura rectal, ni la hepática, medidas tradicionalmente, tienen relación directa con las horas transcurridas desde el hallazgo, en la muestra analizada para cadáveres con certificado de defunción, aunque sería necesario repetir el estudio ampliando el tamaño de la muestra, para confirmarlo. En los casos en los que no sea posible tomar la temperatura del hígado por los métodos tradicionales, se puede realizar, alternativamente, la medida de la temperatura genital o hepática mediante termografía infrarroja.

Las termografías se pueden realizar en el mismo lugar del levantamiento del cadáver y en función de la temperatura, se puede diferenciar entre las causas de muerte inespecífica – natural o accidental - , así como entre fases de descomposición. Queda patente la relación entre los parámetros de crecimiento de P.acnes y las temperaturas termografiadas en el cadáver.

Las variables ambientales de la sala de autopsia - humedad y temperatura – no influyen sobre las variables que intervienen en la fórmula propuesta para el cálculo de la data de muerte para esta muestra concreta y las variables ambientales del entorno, donde se hallan los cadáveres, pueden influir sobre las temperaturas de los restos cadavéricos, pero no presentan relación con el tiempo transcurrido desde el hallazgo del cadáver.

Sería necesario repetir el estudio, registrando la temperatural ambiental exacta, en el lugar del levantamiento del cuerpo, con estación meteorológica portátil y solicitando a la AEMET la temperatura de la zona, situada fuera o dentro del área metropolitana, para confirmar este resultado.

En cuanto a la hipótesis de partida, se puede concluir que se ha detectado una leve correspondencia entre la temperatura de los restos cadavéricos y el tiempo transcurrido desde la muerte, que no permite una mayor aproximación en el cronotanatodiagnóstico –lo que pudiera deberse al pequeño número de termografías realizadas- y sin embargo, se ha inferido que existe una fuerte correspondencia entre los parámetros de crecimiento de *Propionibacterium* acnes sobre restos cadavéricos, respecto al tiempo transcurrido desde el óbito, que permiten una mayor aproximación al cálculo de la data de muerte, con fines criminalísticos.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Death time estimation in case work II. Integration of different methods. Hennssge, C., Madea,B y Gallenkemper, E. Forensic. Sci. Int., 39-77-87,1988.

2. Distribution and persistence of Staphylococcus and Micrococcus species and other aerobic bacteria on human skin. Kloos WE, Musselwhite MS. PMID: 810086 [PubMed indexed for MEDLINE].

3. Estimating the time of death. The rectal cooling after death and its mathematical expression. Marshall, T.K y Hoare, F.E. J. Forensic Sci, 7, 56-84, 1962.

4. Estimation of short-term post-mortem interval utilizing core body temperature: a new algorithm. Nelson, E.L. Forensic. Sci. Int., 109,31, 2000.

5. Growth curve for Propionibacterium acnes. Hall GS, Pratt-Rippin K, Meisler DM, Washington JA, Roussel TJ, Miller D. Section of Microbiology, Cleveland Clinic, OH. PMID: 7924410 [PubMed - indexed for MEDLINE].

6. Human Oral Microbial Ecology and Dental Caries and Periodontal Diseases, W.F. Liljemark C. Bloomquist, Department of Diagnostic and Surgical Sciences, University of Minnesota School of Dentistry, Minneapolis, MN 55455-0329.

7. Medicina legal y toxicología. 16. Diagnóstico de la muerte cierta. A. Luna Maldonado.17 Fenómenos cadavéricos. M.S Gisbert Grifo. 18. Procesos conservadores del cadáver. 20. Data de la muerte y otros problemas tanatológicos médico-legales. J. Castilla Gonzalo Gisbert Calabuig, E. Villanueva Cañadas, 6ª Edición, Masson, 2004, 178 - 200, 208, 218, 244 -252.

AGRADECIMIENTOS

Directores de tesis: Dr. Miguel C. Botella López - Laboratorio Antropología, Facultad de Medicina, Universidad de Granada) y Dr. Eulogio J. Bedmar Gómez - Dpto. Microbiología del Suelo–Secc. Metabolismo del Nitrógeno-Estación Experimental Zaidín–CSIC–Granada.

Colaboraciones: José de la Higuera Hidalgo, Elisa M. Cabrerizo Medina y equipo - Servicios de Patología y Laboratorio del Instituto de Medicina Legal de Granada; Juan A. Sánchez Raya –EEZ - CSIC-Granada; Mª Teresa Miranda León - Dpto. Estadística e Investig. Operativa–UGR. Gracias a todos los miembros de las respectivas unidades, que han contribuido inestimablemente, con la donación de muestras, al avance de la investigación.